

**(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION  
EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)**

**(19) Organisation Mondiale de la Propriété  
Intellectuelle**  
Bureau international



**(43) Date de la publication internationale**  
**28 mars 2002 (28.03.2002)**

**PCT**

**(10) Numéro de publication internationale**  
**WO 02/24870 A1**

**(51) Classification internationale des brevets<sup>7</sup> : C12N 1/28,**  
A23C 9/127, 19/032, C12N 1/20

**(21) Numéro de la demande internationale :**

PCT/FR01/02928

**(22) Date de dépôt international :**

20 septembre 2001 (20.09.2001)

**(25) Langue de dépôt :**

français

**(26) Langue de publication :**

français

**(30) Données relatives à la priorité :**

00/12172 25 septembre 2000 (25.09.2000) FR  
01/02492 23 février 2001 (23.02.2001) FR

**(71) Déposant (pour tous les États désignés sauf US) : RHODIA CHIMIE [FR/FR]; 26, quai Alphonse Le Gallo, F-92512 BOULOGNE-BILLANCOURT CEDEX (FR).**

**(72) Inventeurs; et**

**(75) Inventeurs/Déposants (pour US seulement) : ZINDEL, Laurent [FR/FR]; 7, avenue de Piffoux, F-86100 CHATELLERAULT (FR). MORNET, Annie [FR/FR]; La Barre, F-86230 MONDION (FR). FONTAINE, Eloi [FR/FR]; 17, place François Sicard, F-37000 TOURS (FR). GUILLAUD, Denis [FR/FR]; La Reviria, Saint-Pierre, F-38850 PALADRU (FR).**

**(74) Mandataire : DUBRUC, Philippe; RHODIA SERVICES, Direction de la Propriété Industrielle, 40, rue de la Haie-Coq, F-93306 AUBERVILLIERS CEDEX (FR).**

**(81) États désignés (national) : AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.**

**(84) États désignés (régional) : brevet ARIPO (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), brevet eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet européen (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).**

**Publiée :**

— avec rapport de recherche internationale

*En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abréviations, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de la Gazette du PCT.*



---

**(54) Title: FERMENT ACTIVATOR BASED OF LACTIC ACID BACTERIA AND METHOD FOR PREPARING A DAIRY PRODUCT USING SAME**

**A1 (54) Titre : ACTIVATEUR POUR FERMENT A BASE DE BACTERIES LACTIQUES ET PROCEDE DE PREPARATION D'UN PRODUIT LACTE METTANT EN OEUVRE LEDIT ACTIVATEUR.**

**(57) Abstract:** The invention concerns a ferment activator based on lactic acid bacteria, characterised in that it comprises at least: a nitrogenous substance, a buffer system capable of maintaining the activity pH of the lactic acid bacteria with which said activator is to be associated at a value ranging between 5 and 7, and free of added sugar(s) capable of being metabolised by said lactic acid bacteria. The invention also concerns a method for preparing a dairy product characterised in that it consists in using said activator.

**(57) Abrégé :** La présente invention a pour objet un activateur pour un ferment à base de bactéries lactiques, caractérisé en ce qu'il comprend au moins :- une substance azotée,- un système tampon capable de maintenir le pH d'activité des bactéries lactiques auxquelles doit être associé ledit activateur à une valeur comprise entre 5 et 7, et qui est exempt en sucre(s) ajouté(s) métabolisable(s) par lesdites bactéries lactiques.La présente invention concerne également le procédé de préparation d'un produit lacté caractérisé par la mise en oeuvre de cet activateur.

**WO 02/24870**

ACTIVATEUR POUR FERMENT A BASE DE BACTERIES LACTIQUES ET  
PROCEDE DE PREPARATION D'UN PRODUIT LACTE METTANT EN OEUVE  
LEDIT ACTIVATEUR.

La présente invention se rapporte à un activateur pour un ferment à base de bactéries lactiques, à l'utilisation de cet activateur pour la préparation de produits lactés et au procédé de préparation d'un produit lacté caractérisé par la mise en œuvre de cet activateur.

5 La fermentation du lait est généralement réalisée par ensemencement de celui-ci à l'aide d'une culture bactérienne couramment désignée sous le nom de starter, ferment ou levain. Ce ferment contient généralement des bactéries anaérobies ou microaérophiles appartenant au groupe des grams positifs qui fermentent les sucres en leurs acides respectifs. L'acide principalement produit  
10 est l'acide lactique à partir du lactose.

Généralement, ces fermentes contiennent des organismes mésophiles ayant une température de croissance optimale comprise entre 25 et 35°C et/ou des organismes dits thermophiles ayant une température de croissance optimale entre 35 et 45°C.

15 Les organismes les plus utilisés et qui sont présents dans les fermentes, sont ceux appartenant aux genres *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Bifidobacterium* et *Brevibacterium*.

20 Les organismes spécifiques appartenant au groupe des mésophiles comprennent les *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis*, *Leuconostoc cremoris*, *Leuconostoc mesenteroides* subsp *mesenteroides*, *Leuconostoc mesenteroides* subsp *lactis*, cette liste n'étant pas exhaustive.

25 Les espèces bactériennes de type thermophile sont, entre autre, les *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus*, *Lactobacillus bulgaricus* et *Lactobacillus acidophilus*.

Ces fermentes sont utilisés sous la forme de concentrés soit sous forme sèche, c'est-à-dire sous forme d'une poudre, par exemple lyophilisée ou atomisée, sous forme liquide, ou à l'état congelé.

30 Ces types de formulation ont pour double avantage de préserver la viabilité des cultures sur une large période et d'être tout particulièrement appropriés à l'ensemencement direct, selon lequel on introduit directement le ferment dans le lait de fabrication. Avantageusement, aucune mise en culture

préliminaire ne s'avère nécessaire avant utilisation par opposition à l'ensemencement dit semi-direct.

Bien que la présente invention puisse également être appliquée efficacement à l'ensemencement semi-direct, elle s'avère tout particulièrement 5 intéressante pour l'ensemencement dit direct pour la raison suivante : lorsque les bactéries sont introduites lors d'un ensemencement direct, c'est-à-dire sous la forme d'un concentrat sec, liquide ou congelé, elles ne sont pas immédiatement efficaces et elles nécessitent une remise en activité. La remise en activité de ce type de ferment nécessite un laps de temps d'adaptation correspondant d'une 10 part au rétablissement de la bactérie conditionnée sous sa forme naturelle et d'autre part à la restitution de son activité métabolique. Plus précisément, cette période d'adaptation comprend successivement une première phase de réhydratation et une deuxième phase dite « de latence » correspondant plus particulièrement au « réveil » de l'activité métabolique des bactéries. C'est au 15 cours de cette deuxième phase que s'effectuent la réparation cellulaire, l'adaptation du système enzymatique à son environnement biologique et l'initiation de la division cellulaire. Alors que la phase de réhydratation est quasiment immédiate, la phase de latence peut s'étendre jusqu'à 3 heures, et est bien entendu préjudiciable pour l'industriel en terme de rentabilité.

20 La technique de l'ensemencement direct offre des avantages déterminants : disponibilité immédiate des ferment sous un encombrement réduit, possibilité de réaliser des mélanges complexes d'espèces ou de souches différentes dans des proportions déterminées et constantes, régularité des performances accrue par rapport aux ferment traditionnels préparés sur les lieux 25 d'utilisation, production réalisée dans des unités spécialisées où chaque étape du procédé est optimisée et contrôlée, qualité des ferment rigoureusement définie.

La présente invention a précisément pour objectif de proposer un moyen pour réduire significativement cette période de latence.

30 De manière inattendue, les inventeurs ont mis en évidence que la mise en contact d'un ferment à base de bactéries lactiques et de préférence dit direct, avec un activateur conforme à l'invention, préalablement à son introduction dans le milieu lacté à traiter, permettait de diminuer significativement ladite période de latence.

La présente invention a donc pour premier objet un activateur pour un ferment à base de bactéries lactiques.

Elle a pour second objet l'utilisation de cet activateur pour activer en milieu liquide un ferment à base de bactéries lactiques.

5 Un autre aspect de la présente invention concerne un ferment à base de bactéries lactiques ainsi activé.

Enfin, la présente invention a pour quatrième objet un procédé de préparation d'un produit lacté caractérisé par la mise en œuvre de cet activateur ou d'un ferment activé selon l'invention.

10 Plus précisément, la présente invention vise un activateur pour un ferment à base de bactéries lactiques, caractérisé en ce qu'il comprend au moins :

- une substance azotée,
- un système tampon capable de maintenir le pH d'activité des bactéries lactiques auxquelles doit être associé ledit activateur à une valeur comprise entre 15 5 et 7,

et qui est exempt en sucre(s) ajouté(s) métabolisable(s) par lesdites bactéries lactiques.

20 L'activateur revendiqué est particulièrement intéressant en terme de stabilité et/ou de gain de productivité, d'un ferment à ensemencement direct sous forme liquide.

25 C'est ainsi qu'en raison de l'absence dans l'activateur, de sucre(s) métabolisable (s), on n'initie pas, lors de la mise en contact de cet activateur avec le ferment à activer, de production importante d'acide lactique qui serait préjudiciable à la stabilité des bactéries lactiques. Il s'ensuit une plus grande stabilité dans le temps du ferment activé.

30 En conséquence, l'utilisation conjointe de l'activateur avec un ferment à base de bactéries lactiques permet avantageusement de préserver et standardiser l'activité métabolique des bactéries activées sur une période de temps prolongée comparativement à celle observée avec un même ferment sous une forme non activée.

De plus, de manière tout à fait avantageuse, l'utilisation de l'activateur avec un ferment permet de retarder la multiplication cellulaire ou tout simplement de limiter la multiplication cellulaire, tout en permettant aux ferment de

reprendre leur activité métabolique et en maintenant efficace le ferment activé selon l'invention. Ceci est illustré par l'exemple 3.

Un ferment activé selon l'invention est de manière avantageuse, efficace sur une période s'étendant jusqu'à 72 heures, plus particulièrement sur une 5 période s'étendant jusqu'à 48 heures, préférentiellement sur une période s'étendant jusqu'à 24 heures.

C'est ainsi qu'un ferment à base d'un *Lactococcus lactis* activé selon l'invention est efficace sur une période s'étendant jusqu'à 72 heures alors qu'un même ferment, mais non activé, manifeste une perte d'activité significative au- 10 delà de trois heures.

Par ailleurs, les inventeurs ont constaté que la présence de l'activateur était avantageuse en terme d'équilibre des populations microbiennes du système activé. Ceci est notamment illustré par l'exemple 3 figurant ci-après.

En ce qui concerne le gain de productivité, il est principalement lié à la 15 réduction de la période dite « de latence ».

Plus précisément, au sens de la présente invention, on entend désigner par « période de latence », le délai s'écoulant entre le moment de l'introduction du ferment, activé ou non, dans un milieu lacté et le moment où l'activité métabolique des bactéries lactiques présentes dans ce ferment est vérifiée par 20 une diminution significative du pH du milieu lacté due à la formation de l'acide lactique. Cette diminution du pH dite significative est en fait une valeur arbitraire, dépendante de l'appareillage de mesure retenu. Toutefois, à titre indicatif et dans le cas de l'appareillage mis en œuvre dans les exemples illustrant l'invention, cette diminution du pH est évaluée à environ 0,08. De manière plus générale, on 25 peut estimer que cette diminution significative est atteinte lorsque le pH du milieu lacté traité a diminué d'environ 5 % de sa valeur initiale.

Ce gain de productivité est particulièrement significatif pour des ferments à base de bactéries lactiques comprenant totalement ou tout au moins majoritairement des bactéries de type mésophile. Avantageusement, 30 l'association d'un activateur à un ferment à base de bactéries lactiques de type mésophile réduit la période de latence d'environ 10 à 25% de sa valeur standard.

En conséquence et comme il ressort des exemples figurant ci-après, un ferment à base de bactéries lactiques sous une forme lyophilisée, mélangé

préalablement à son introduction dans le lait avec un activateur selon l'invention, restitue beaucoup plus rapidement un pouvoir acidifiant dans le lait comparativement au ferment standard, c'est-à-dire sous une forme non activée.

5 Les substances azotées, présentes dans l'activateur revendiqué, sont ou dérivent de préférence de substances azotées de type peptides et acides aminés et/ou d'une ou plusieurs protéines, laitières ou non.

A titre représentatif des protéines convenant à l'invention, on peut notamment citer la  $\beta$ -lactoglobuline, l'albumine et l'alpha lactalbumine, les caséines et dérivés comme la caséine lactique, la caséine présure et les 10 caséinates, la kappa caséine et la beta caséine.

Comme autres exemples de substances azotées, on peut notamment citer les extraits de levure et plus préférentiellement un extrait de levure *Saccharomyces cerevisiae*, qui peuvent être associés aux protéines citées précédemment.

15 Cette fraction en substances azotées constitue environ 50 à 90 % et de préférence 60 à 80 % en poids de l'activateur.

L'activateur selon l'invention ne contient pas de sucre(s) ajouté(s) ce qui signifie qu'il ne peut y avoir d'autres sources de sucre(s) ajouté(s) dans cet activateur que les substances azotées.

20 Il n'est en effet pas à exclure que ces substances azotées puissent contenir une certaine quantité de sucre(s) métabolisable(s), selon la source de substances azotées utilisées.

25 En ce qui concerne le milieu tampon, il a pour rôle principal de stabiliser le pH du ferment activé à une valeur proche entre 5 et 7 au cours de sa période de réactivation. Sa présence s'avère particulièrement avantageuse lorsqu'il est destiné à être associé à un ferment comprenant principalement des bactéries lactiques de type mésophiles et thermophiles.

30 A titre illustratif des mélanges tampons pouvant convenir à l'invention, on peut notamment citer ceux comprenant des sels de type sels de magnésium et de calcium ainsi que des sels de carbonates, phosphates, citrates.

Il s'agit préférentiellement d'un mélange de carbonates et plus préférentiellement d'un mélange de carbonate de calcium et de carbonate de magnésium.

Selon une variante de l'invention, sont également associés aux substances azotées et mélange tampon, des éléments nutritifs utiles au maintien de l'activité métabolique des bactéries lactiques.

Ces éléments nutritifs incluent généralement des vitamines.

5 De même, peuvent être présents dans l'activateur revendiqué des co-facteurs utiles pour activer la glycolyse. A titre représentatif de ces co-facteurs, on peut en particulier citer les sels minéraux  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$  et  $\text{Zn}^{2+}$ . Ils sont généralement utilisés à raison de 0,1 à 2%.

On peut également envisager d'incorporer dans l'activateur des agents de 10 texture de type hydrocolloïdes, comme les gommes xanthane, guar, etc.

Plus précisément, l'activateur selon l'invention est exempt en sucre(s) ajouté(s) métabolisable(s) par lesdites bactéries lactiques.

15 Encore plus précisément, l'activateur selon l'invention comprend au plus 15 % en poids en sucres métabolisables par lesdites bactéries lactiques, de préférence au plus 10 % des dits sucres, et plus particulièrement au plus 5 % des dits sucres. Il est entendu qu'il s'agit de sucre(s) non ajouté(s) au sens défini plus haut.

A titre illustratif des activateurs revendiqués, on peut plus particulièrement 20 citer ceux comprenant au moins du caséinate de calcium, à raison de 20 à 40% en poids, et à titre de mélange tampon, un mélange de carbonates de calcium et de carbonates de magnésium. Sont également de préférence présents dans cet activateur des extraits de levure et du sulfate de manganèse.

25 L'activateur revendiqué peut être obtenu par simple mélange de ses composants et se présente généralement sous une forme sèche, généralement pulvérulente. Toutefois, on peut également envisager de le formuler sous une forme lyophilisée ou congelée.

L'activateur revendiqué peut aussi se présenter sous forme liquide.

30 Selon une variante préférée de l'invention, l'activateur revendiqué se présente sous une forme stérilisée et est mis en oeuvre en respectant cet aspect stérile.

La présente invention a pour second objet l'utilisation d'un activateur conforme à la présente invention pour activer un ferment à base de bactéries lactiques préalablement à ou lors de l'ensemencement d'un milieu lacté.

Le ratio ferment sur activateur est compris entre 10 % et 70 % en poids sec, de préférence de 20 % à 60 % en poids sec.

L'utilisation de cet activateur pour activer en milieu liquide un ferment à base de bactéries lactiques présente l'avantage d'un ensemencement en ligne, 5 automatisable, continu ou discontinu et aseptique.

L'invention a également pour objet un ferment à base de bactéries lactiques activé, caractérisé en ce qu'il associe à au moins des bactéries lactiques, un activateur conforme à l'invention.

En l'espèce, l'activateur revendiqué est utilisé en quantité telle que ces 10 composants, à savoir les substances azotées et mélange tampon, sont présents en quantités suffisantes pour que l'on observe une activation significative du ferment à base de bactéries lactiques.

A titre indicatif, il est utilisé en quantité telle que sa quantité en substances azotées est ajustée à raison d'environ 160 à 300 % en poids par 15 rapport aux poids de bactéries lactiques présentes dans le ferment à activer, de préférence environ 160 % à 250 %.

L'activateur peut être mélangé au ferment soit préalablement ou au moment de son utilisation. Toutefois, selon un mode de réalisation privilégié, on procède préalablement à son utilisation, à sa réhydratation en présence d'un 20 activateur conforme à la présente invention. Généralement, cette association est réalisée dans un milieu liquide, de préférence l'eau.

L'activateur est réhydraté de manière que la quantité d'activateur soit comprise entre 5 % et 20 % en poids de suspension aqueuse, de préférence comprise entre 7 % et 15 %.

25 La réhydratation et l'activation consécutive peuvent être réalisées à une température comprise entre 10°C et 20°C et de préférence sous agitation, de manière à optimiser l'activation et l'homogénéisation dans le temps. Le ferment activé est ensuite utilisé tel quel pour l'ensemencement, de préférence direct, d'un milieu lacté.

30 Les bactéries lactiques susceptibles d'être associées à un activateur conforme à l'invention incluent toutes les bactéries usuellement mises en œuvre pour la production de produits lactés.

A titre indicatif de bactéries lactiques, on peut citer les bactéries appartenant aux genres *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc* et *Pediococcus*.

On considère également comme bactéries lactiques, les bactéries utilisées dans le domaine laitier appartenant aux genres *Bifidobacterium*, *Propionibacterium* et *Brevibacterium*.

Il peut également s'agir de microorganismes plus particulièrement utilisés pour l'affinage et notamment employés dans l'industrie fromagère. A titre représentatif de ce second type de microorganismes, on peut notamment citer les *Penicillium roqueforti*, *Penicillium candidum*, *Geotrichum candidum*, *Tourla kefir* et *Saccharomyces kefir* et *Kluyveromyces lactis*.

La présente invention a pour quatrième objet un procédé de préparation d'un produit lacté comprenant :

(i) la mise en contact d'un ferment à base de bactéries lactiques avec un activateur conforme à la présente invention, de manière à obtenir un ferment dit activé,

(ii) l'ensemencement du milieu lacté à traiter, de préférence le lait, avec ledit ferment sous une forme activée, et

(iii) l'incubation dudit milieu lacté dans des conditions favorables à l'activité métabolique des bactéries lactiques, de manière à obtenir le produit lacté attendu.

Au sens de la présente invention, le ferment obtenu à l'issu de la première étape (i) est dit activé dans la mesure où comparativement à sa forme standard, c'est-à-dire non associée à un activateur selon l'invention, il manifeste une activité bactérienne améliorée. Cette amélioration se manifeste en termes de stabilité et de gain de productivité comme discuté précédemment.

Pour ce qui est de l'étape préliminaire (i), à savoir la mise en contact du ferment avec l'activateur revendiqué, elle est généralement effectuée dans un délai suffisant à l'obtention de la forme activée et au sein d'un milieu liquide. La suspension correspondante peut être obtenue par ajout d'un liquide, de préférence un milieu aqueux, au mélange des deux composants ou par dispersion consécutive des deux composants dans ledit liquide.

Comme précisé précédemment, l'activateur est utilisé en quantité telle que sa quantité en substances azotées est ajustée à raison d'environ 160 à 300 % en poids par rapport aux poids de bactéries lactiques, de préférence environ 160 % à 250 %.

5 La mise en œuvre du procédé selon l'invention peut se faire grâce à un dispositif d'ensemencement.

Le dispositif d'ensemencement préféré, pour mettre en œuvre le procédé selon l'invention, se présente sous la forme d'un réservoir scellé.

10 Le réservoir scellé peut se présenter sous la forme d'une poche fermée munie d'un système d'agitation interne et de moyens d'entrée et de sortie.

15 Un des moyens d'entrée permet l'arrivée du milieu aqueux dans le réservoir scellé afin de réaliser l'étape (i). Le milieu aqueux est préalablement stérilisé, de préférence il est filtré sur membrane d'eau plus 0,45 µm, plus particulièrement au plus 0,22 µm. Il est à noter que l'on peut utiliser l'eau du robinet.

La température du milieu aqueux à son arrivée dans le réservoir scellé, est comprise entre 5°C et 15°C, de préférence comprise entre 8°C et 12°C.

20 Un des autres moyens d'entrée permet l'arrivée de gaz dans le réservoir scellé. L'arrivée de gaz va permettre de mettre en œuvre le système d'agitation interne du réceptacle.

25 Le système d'agitation interne est constitué d'une poche interne perméable. Dans ce cas le réservoir scellé comprend une poche interne perméable et une poche externe fermée. L'agitation est réalisée par injection successive de gaz dans la poche interne perméable, qui permet le transfert de la suspension de la poche interne perméable à la poche externe fermée.

On utilise avantageusement un gaz qui n'intervient pas dans la respiration et / ou l'oxydation des microorganismes, des ferment et des bactéries.

30 Le gaz injecté est un gaz chimiquement et biologiquement inerte, de préférence on injecte de l'argon, plus particulièrement de l'azote ou du dioxyde de carbone.

Par gaz biologiquement inerte, on entend un gaz qui n'intervient pas dans la multiplication et la dégradation des microorganismes.

La pression de gaz dans le réservoir scellé, au cours de l'agitation, est inférieure à 5 bars, de préférence inférieure à 1 bar.

L'injection de gaz peut également se faire par intervalle régulier de temps. De préférence on injecte le gaz sous pression par intervalle de temps compris 5 entre 0,5 minute et 60 minutes.

L'agitation permet la mise en suspension des ferment et de l'activateur dans le milieu aqueux.

Après agitation, la suspension de ferment et de l'activateur est maintenue en suspension par injection de gaz selon le même principe d'injection 10 successive de gaz dans la poche interne.

La vidange du réservoir scellé se fait de manière aseptique par le moyen de sortie, ce qui permet de réaliser l'étape (ii) du procédé.

Cette vidange est réalisée par injection de gaz à l'intérieur du réservoir scellé, ou par transfert de la suspension aqueuse de ferment et d'activateur à 15 l'aide d'une pompe ou par gravité.

L'ensemencement du milieu lacté à traiter avec ledit ferment sous une forme activée (étape (ii)) est réalisé à un débit compris entre 10 ml/min et 1000 ml/min, de préférence compris entre 100 ml/min et 500 ml/min.

La mise en œuvre de l'étape (ii) selon l'invention se fait à une température 20 comprise entre 5°C et 40°C, de préférence comprise entre 10°C et 15°C.

La mise en œuvre de l'étape (ii) selon l'invention se fait sur une période s'étendant jusqu'à 72 heures, plus particulièrement sur une période s'étendant jusqu'à 48 heures, préférentiellement sur une période s'étendant jusqu'à 24 heures.

25 L'étape (ii) peut se réaliser selon plusieurs variantes.

Une première variante du procédé au niveau de l'étape (ii) consiste à ensemencer le milieu lacté à traiter en une seule fois avec ledit ferment sous une forme activée. Ceci est réalisé par vidange du ou des réservoir(s) en une seule fois. Il s'agit d'un ensemencement en lot (un seul réservoir) ou multi-lots 30 (plusieurs réservoirs).

Une seconde variante du procédé au niveau de l'étape (ii) consiste à ensemencer le milieu lacté à traiter de manière continue avec ledit ferment sous une forme activée.

Une troisième variante du procédé au niveau de l'étape (ii) consiste à ensemencer le milieu lacté à traiter de manière discontinue avec ledit ferment sous une forme activée.

Par discontinue on entend un cycle d'ensemencement réalisé de la manière suivante : on ensemence le milieu lacté à traiter pendant un laps de temps, puis on arrête l'ensemencement, puis on recommence l'ensemencement, ceci pendant plusieurs cycles.

Dans le cadre de cette troisième variante, l'ensemencement du milieu lacté à traiter avec ledit ferment sous une forme activée (étape (ii)) est réalisé à un débit compris entre 10 ml/min et 1000 ml/min, de préférence compris entre 100 ml/min et 500 ml/min, fait par intervalle régulier ou irrégulier de temps compris entre 1 minute et 600 minutes.

Il est à noter que le réservoir scellé est de manière avantageuse fixé sur un poste mobile qui peut-être déplacé sur toutes les parties de la chaîne industrielle, avant ou après l'étape (i) du procédé selon l'invention.

Le type de réservoir préféré pour la mise en œuvre du procédé selon l'invention est du type jetable et / ou stérile.

Ce réservoir est constitué de préférence d'une matière flexible comme par exemple le polypropylène, le polyester, le polyamide, la cellulose ou de tout autre matériel flexible compatible avec les produits alimentaires, de préférence il est en polyéthylène.

L'avantage de la mise en œuvre du procédé selon l'invention grâce au dispositif d'ensemencement tel que décrit ci-dessus, est de réaliser un ensemencement direct, à température ambiante, stérile, standardisé, adaptable à chaque type de production et qui garantit la qualité bactériologique.

Un autre avantage de la mise en œuvre du procédé selon l'invention grâce au dispositif d'ensemencement tel que décrit ci-dessus est de simplifier et fiabiliser l'étape d'ensemencement du ferment lactique.

La présente invention s'étend également aux différentes formes de conditionnement de l'activateur revendiqué.

On peut en effet formuler l'activateur revendiqué sous un conditionnement distinct de celui du ferment à base de bactéries lactiques auquel il est destiné à être associé ou, à l'inverse, envisager un conditionnement commun au sein

duquel sont présents, de manière séparée ou non, l'activateur revendiqué et le ferment à base de bactéries lactiques.

Cette seconde variante de conditionnement peut par ailleurs être conçue de manière à ce qu'elle soit adaptée au mélange préalable du ferment et de l'activateur et donc à la préparation du ferment dit activé préliminairement à l'ensemencement d'un milieu lacté.

Les exemples figurant ci-après sont présentés à titre illustratif et non limitatif de la présente invention.

#### Méthode

Les bactéries lactiques, seules ou en mélange, présentent une grande diversité de comportements. Dans le cas de la présente invention, l'activité acidifiante a été retenue à titre de critère de caractérisation.

L'acidification d'un milieu lacté se fait selon l'ordre chronologique suivant :

- inoculation d'un lait (pH voisin de 6,6),
- accroissement de la population de bactéries lactiques grâce à l'hydrolyse du lactose du lait,
- production d'acide lactique par les bactéries qui se traduit par une diminution du pH du milieu lacté,
- arrêt de la croissance des bactéries qui sont inhibées progressivement par l'acide lactique formé,
- poursuite de la production d'acide jusqu'à un pH de 4,5.

L'activité acidifiante a été appréciée dans les exemples ci-après à l'aide d'un système automatique de suivi et de caractérisation des fermentations lactiques par acquisition de mesure de pH en temps réel, encore désignée ci-après sous l'appellation CINAC.

Le CINAC est composé:

- \* d'électrodes combinées en verre de type Ingold (24 voies de mesures de pH placées dans des erlens contenant le milieu ensemencé et 8 voies de mesures de température)

- \* d'un bain-marie réglé par un thermostat et dans lequel sont placés les erlenmeyers
- \* d'une carte électronique fournissant un signal analogique et une interface électronique convertissant ce dernier en numérique
- 5 \* d'un micro-ordinateur PC muni du logiciel CINAC assurant les fonctions suivantes :
  - . configuration du système
  - . acquisitions, traitements et stockages des données
  - . étalonnage des sondes à pH7 et pH4
- 10 . calcul des descripteurs cinétiques
- . représentations graphiques des données traitées
- . conversions des données pour l'utilisation de ces dernières sur d'autres logiciels
  - . programmation de cycles thermiques pour réguler la température du bain-marie
  - . compensation des températures pour corriger les variations de ces dernières sur le pH
    - (cette correction se fait grâce à un régulateur PID : proportionnel-intégral-dérivé)
- 15 . exécution de procédures de test des données d'étalonnage afin de détecter les dysfonctionnements liés aux sondes.

Le CINAC traite les données en fournissant les courbes des cinétiques d'acidification et les descripteurs de ces dernières.

25 Les courbes, décrivant les cinétiques, représentent les évolutions du pH et de la vitesse d'acidification ( $dpH/dt$ ), en fonction du temps. Elles témoignent des différentes étapes de la croissance : phase de réadaptation, accélération, phase exponentielle, ralentissement, phase stationnaire.

30 Les descripteurs retenus dans les exemples pour caractériser les cinétiques d'acidification sont :

- \*  $T_a$  = temps de latence en min (temps au bout duquel le pH a varié de 0.08 upH en dessous de sa valeur initiale)

- \*  $V_m$  = vitesse maximale d'acidification en upH/min (vitesse prise au maximum de la valeur absolue de la dérivée  $d\text{pH}/dt=f(t)$ )
- \* temps 5,20 = temps pour obtenir un pH de 5,20 en minutes.

5 A partir de l'ensemble de ces paramètres il est possible d'apprécier un gain ou une perte de productivité.

EXEMPLE 1

Préparation d'un ferment concentré réhydraté selon l'invention.

10 Préliminairement, on prépare l'activateur selon l'invention dans un flacon stérile de 1 l contenant un barreau magnétique double anneaux de 45 mm. Les différents composants de ce mélange sont présentés dans le tableau I ci-après :

TABLEAU I

Produits	Quantité (g)
Protéines laitières	30
Extrait de <i>S. cerevisiae</i>	35
Carbonate de calcium	10
Carbonate de magnésium	10
Sulfate de manganèse	5

15 Les fractions protéiques et minérales constituant ce mélange sont pasteurisées à 85°C pendant 30 minutes puis elles sont mélangées et l'ensemble est lyophilisé.

Dans les exemples ci-après, l'activateur ainsi obtenu est ensuite mélangé à 50g de ferment lyophilisé et 870g d'eau stérile. Le mélange sec est versé dans de l'eau sous agitation magnétique et la dissolution se fait en quelques minutes.

20 On obtient ainsi 1 litre d'une solution qui contient 50g de lyophilisé.

La température de la réhydratation du mélange résultant, à savoir lyophilisat et activateur revendiqué est conduite selon un cycle thermique dit « hiver ». Ce cycle restitue la remontée en température d'un ensemble de 25 l qui commence à 15°C et s'achève à une température de 20°C qui est atteinte en 20 H environ.

EXEMPLE 2Mesure de l'activité acidifiante du concentré liquide obtenu selon l'exemple 1.

5 L'activité du concentré bactérien est appréciée en fonction du temps de stockage. Elle est mesurée après 20 minutes (considéré comme le temps T0), 3 heures, 6 heures, 16 heures et 24 heures de stockage.

10 Les souches testées sont des souches à dominante mésophile. Il s'agit plus précisément des souches RA 024, RM 034 et MA 014 qui sont des ferment 10 lactiques commercialisés par RHODIA FOOD S.A.S.

La souche RA 024 est un mélange *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* et *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*.

15 La souche MA 014 est un mélange *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* et *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*.

La souche RM 034 est un mélange *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis* et *Streptococcus thermophilus*.

20 Le support d'ensemencement utilisé est du lait ½ écrémé à 30°C. En raison de la concentration, on procède à une dilution pour pouvoir 20 ensemencer les tests d'acidification.

Une activité témoin est lancée pour chaque test réalisé qui met en œuvre 1 g de lyophilisat dans 200 ml de lait.

25 Les témoins sont des ensemencements directs avec du ferment non activé dans le lait de fabrication.

En raison de la concentration des ferment utilisés, on procède à une dilution du produit. Ainsi, 1 g de ferment est dissous dans 200 ml de lait qui est utilisé pour la mesure d'activité.

30 Dans le cas des essais réhydratés, on procède également à une dilution. L'ensemencement doit être réalisé immédiatement pour ne pas pénaliser l'activité du concentrat bactérien.

Mesure de l'activité acidifiante au cours du temps.

Les résultats obtenus avec chacune des souches sont présentés en tableaux II, III et IV ci-après.

Les données figurant dans ces tableaux rendent compte des gains obtenus 5 en termes de stabilité et de productivité avec les ferment activés selon l'invention comparativement à leur forme non activée respective.

TABLEAU II

A 014 activé		Essai activé puis stocké					
Temps de stockage		1 H	2 H	4 H	6 H	8 H	24h
Temps en min. pour avoir un pH de 5,20		380	370	385	385	380	380
MA 014 non activé témoin							
Temps en min pour avoir un pH de 5,20		400	400	400	400	400	400
Gain en temps technologique en minutes obtenu avec la forme activée		20	30	15	15	20	20

10

TABLEAU III

RA 024 activé		Essai activé puis stocké						
Temps de stockage		1 H	2 H	4 H	6 H	8 H	12 H	24h
Temps en min. pour avoir un pH de 5,20		395	395	390	390	390	390	395
RA 024 non activé témoin								
Temps en min pour avoir un pH de 5,20		410	410	410	410	410	410	410
Gain en temps technologique en minutes obtenu avec la forme activée		15	15	20	20	20	20	15

TABLEAU IV

RM 034 activé	Essai activé puis stocké						
Temps de stockage	1 H	2 H	4 H	6 H	8 H	12 H	24h
Temps en min. pour avoir un pH de 5,20	425	425	425	420	415	415	415
<u>RM 034 non activé témoin</u>							
Temps en min pour avoir un pH de 5,20	445	445	445	445	445	445	445
Gain en temps technologique en minutes obtenu avec la forme activée	20	20	20	25	30	30	30

5

EXAMPLE 3Stabilité des populations microbiennes en présence d'un activateur conforme à l'invention.

10

Dans cet essai, est évaluée la stabilisation des populations sur une durée de 24 heures au sein des fermentes RA 021, RA 022, RA 024 et RA 026 réhydratés en présence de l'activateur préparé selon l'exemple 1.

RA 021, RA 022 et RA 026 sont des souches comprenant un mélange de bactéries mésophiles et thermophiles à l'image de celui identifié pour la souche RA 024 et sont commercialisées par RHODIA FOOD S.A.S.

Les conditions du mélange du ferment à base de bactéries lactiques considéré et de l'activateur sont identiques à celles présentées dans l'exemple 2.

Les résultats sont présentés dans le tableau V ci-après.

TABLEAU V

Mélanges Commerciaux	Groupe de souches	Temps de stockage			
		T0	4h00	8h00	24h00
	mésophile	3.10E+10	3.30E+10	3.50E+10	3.20E+10
RA021	thermophile	5.10E+09	5.00E+09	5.40E+09	6.50E+09
	mésophile	3.10E+10	3.00E+10	3.00E+10	3.00E+10
RA022	thermophile	3.20E+09	4.00E+09	4.40E+09	5.90E+09
	mésophile	3.20E+10	3.50E+10	3.00E+10	3.40E+10
RA024	thermophile	4.90E+09	5.30E+09	5.80E+09	6.70E+09
	mésophile	2.40E+10	2.60E+10	2.50E+10	2.20E+10
RA026	thermophile	3.70E+09	4.20E+09	4.00E+09	4.00E+09

5 De ces résultats il ressort le comportement avantageux de l'activateur vis-à-vis de la population bactérienne présente dans le ferment, et notamment la faible multiplication cellulaire.

REVENDICATIONS

1. Activateur pour un ferment à base de bactéries lactiques, caractérisé en ce qu'il comprend au moins :
  - une substance azotée,
  - un système tampon capable de maintenir le pH d'activité des bactéries lactiques auxquelles doit être associé ledit activateur à une valeur comprise entre 5 et 7,

10 et qui est exempt en sucre(s) ajouté(s) métabolisable(s) par lesdites bactéries lactiques.
2. Activateur selon la revendication 1, caractérisé en ce que la substance azotée est ou dérive d'une substance azotée de type peptide et acide aminé et/ou d'une ou plusieurs protéines laitières ou non.
3. Activateur selon la revendication 2, caractérisé en ce que la substance azotée comprend une protéine choisie parmi la  $\beta$ -lactoglobuline, l'albumine et l'alpha lactalbumine, les caséines et dérivés comme la caséine lactique, la caséine presure et les caséinates, la kappa caséine, la beta caséine.
4. Activateur selon l'une des revendications 1 à 3 caractérisé en ce que la substance azotée comprend en outre un extrait de levure.
- 25 5. Activateur selon l'une des revendications 1 à 4, caractérisé en ce que la fraction en substance(s) azotée(s) constitue 50 à 90% et de préférence 60 à 80% en poids de l'activateur.
- 30 6. Activateur selon l'une des revendications précédentes, caractérisé en ce que le mélange tampon est un mélange de carbonates, et de préférence un mélange de carbonate de calcium et de carbonate de magnésium.

7. Activateur selon l'une des revendications précédentes, caractérisé en ce qu'il comprend en outre des éléments nutritifs nécessaires au maintien de l'activité métabolique des bactéries lactiques.

5 8. Utilisation d'un activateur tel que défini dans les revendications 1 à 7 pour l'activation d'un ferment à base de bactéries lactiques, préalablement à ou lors de l'ensemencement direct dans un milieu lacté.

10 9. Utilisation selon la revendication 8, caractérisée en ce que la mise en contact dudit activateur avec le ferment à base de bactéries lactiques est réalisée en milieu liquide.

15 10. Ferment à base de bactéries lactiques activé, caractérisé en ce qu'il associe à au moins des bactéries lactiques, un activateur selon l'une des revendications 1 à 7.

11. Ferment à base de bactéries lactiques selon la revendication 10, caractérisé en ce que les bactéries lactiques sont des bactéries à dominance mésophile.

20 12. Ferment à base de bactéries lactiques selon la revendication 10 ou 11, caractérisé en ce que les bactéries lactiques et l'activateur sont associés au sein d'un milieu liquide.

25 13. Ferment à base de bactéries lactiques selon l'une des revendications 10 à 12, caractérisé en ce que l'activateur est utilisé en quantité telle que sa quantité en substances azotées est ajustée à raison d'environ 160 à 300 % en poids par rapport aux poids de bactéries lactiques.

30 14. Procédé de préparation d'un produit lacté comprenant :  
(i) la mise en contact d'un ferment comprenant au moins des bactéries lactiques avec un activateur selon l'une des revendications 1 à 7, de manière à obtenir le ferment sous une forme activée,

(ii) l'ensemencement du milieu lacté à traiter, de préférence le lait avec ledit ferment sous une forme activée, et

(iii) l'incubation dudit milieu lacté dans des conditions favorables à l'activité métabolique desdites bactéries lactiques de manière à obtenir le produit lacté attendu.

15. Procédé selon la revendication 14, caractérisé en ce que la mise en contact du ferment à base de bactéries lactiques avec ledit activateur est réalisée au sein d'un milieu liquide.

10

16. Procédé selon l'une des revendications 14 ou 15, caractérisé en ce que la mise en œuvre du procédé peut se faire grâce à un dispositif d'ensemencement.

15

17. Procédé selon la revendication 16, caractérisé en ce que le dispositif d'ensemencement se présente sous la forme d'un réservoir scellé.

18. Procédé selon la revendication 17, caractérisé en ce que le réservoir scellé peut se présenter sous la forme d'un résevoir jetable et / ou fixé sur un poste mobile.

20

19. Procédé selon l'une des revendications 17 ou 18, caractérisé en ce que le réservoir scellé peut se présenter sous la forme d'une poche munie d'un système d'agitation interne et de moyens d'entrée et de sortie.

25

20. Procédé selon l'une des revendications 17 ou 19, caractérisé en ce que un des moyens d'entrée permet l'arrivée du milieu aqueux dans le réservoir scellé afin de réaliser l'étape (i).

30

21. Procédé selon l'une des revendications 17 à 20, caractérisé en ce que la température du milieu aqueux à son arrivée dans le réservoir scellé, est comprise entre 5°C et 15°C, de préférence comprise entre 8°C et 12°C.

22. Procédé selon l'une des revendications 17 à 21, caractérisé en ce que un des autres moyens d'entrée permet l'arrivée de gaz le dans le réservoir scellé.

23. Procédé selon l'une des revendications 17 à 22, caractérisé en ce que 5 le gaz injecté est un gaz chimiquement et biologiquement inerte, de préférence de l'argon, plus particulièrement de l'azote ou du dioxyde de carbone.

24. Procédé selon l'une des revendications 17 à 23, caractérisé en ce que la pression de gaz dans le réservoir scellé, est inférieure à 5 bars, de préférence 10 inférieure à 1 bar.

25. Procédé selon l'une des revendications 17 à 24, caractérisé en ce que l'injection de gaz se fait par intervalle régulier de temps, de préférence compris entre 0,5 minute et 60 minutes.

15

26. Procédé selon l'une des revendications 14 à 25, caractérisé en ce que l'étape (ii) peut se réaliser selon plusieurs variantes, soit en lot, soit en multi-lots, soit en continu ou en discontinu.

20

27. Procédé selon l'une des revendications 14 à 26, caractérisé en ce que l'étape (ii) est réalisée à un débit compris entre 10 ml/min et 1000 ml/min, de préférence compris entre 100 ml/min et 500 ml/min.

25

28. Procédé selon l'une des revendications 14 à 27, caractérisé en ce que la mise en œuvre de l'étape (ii) se fait à une température comprise entre 5°C et 40°C, de préférence comprise entre 10°C et 15°C.

30

29. Procédé selon l'une des revendications 14 à 28, caractérisé en ce que la mise en œuvre de l'étape (ii) se fait sur une période s'étendant jusqu'à 72 heures, plus particulièrement sur une période s'étendant jusqu'à 48 heures, préférentiellement sur une période s'étendant jusqu'à 24 heures.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No  
PCT/FR 01/02928

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
IPC 7 C12N1/38 A23C9/127 A23C19/032 C12N1/20

According to international Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)  
IPC 7 C12N A23C

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, BIOSIS, FSTA, INSPEC

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category <sup>*</sup>	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 4 851 347 A (WILLRETT DOUGLAS L ET AL) 25 July 1989 (1989-07-25) abstract ---	1
A	US 4 402 986 A (SINKOFF BRIAN A ET AL) 6 September 1983 (1983-09-06) abstract column 2, line 27 - line 35 ---	1
A	EP 0 575 951 A (MUELLER KARL & CO KG) 29 December 1993 (1993-12-29) abstract; claims; example 1 page 2, line 30 - line 37 page 3, line 21 - line 28 ---	1-12,14, 15 -/-

Further documents are listed in the continuation of box C.

Patent family members are listed in annex.

## \* Special categories of cited documents :

- \*A\* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- \*E\* earlier document but published on or after the International filing date
- \*L\* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- \*O\* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- \*P\* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- \*T\* later document published after the International filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- \*X\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- \*Y\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- \*&\* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

Date of mailing of the international search report

12 December 2001

19/12/2001

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-5016

Authorized officer

Ceder, O

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No PCT/FR 01/02928
---

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	LELIEVELD H L M: "CONTINUOUS FERMENTATION IN YOGHURT MANUFACTURE" PROCESS BIOCHEMISTRY, XX, XX, vol. 11, no. 5, 1 June 1976 (1976-06-01), pages 39-40, XP002031924 page 39; figure 1 ---	14-17, 19,20, 22,23, 26,28,29
A	US 4 020 185 A (ANDERSEN DELMAR LLOYD ET AL) 26 April 1977 (1977-04-26) abstract; claims ---	1,2,4, 8-10,12, 14,15
A	GOMES ET AL.: "Use of small ruminants' milk supplemented with available nitrogen as growth media for <i>Bifidobacterium lactis</i> and <i>Lactobacillus acidophilus</i> " JOURNAL OF APPLIED MICROBIOLOGY, vol. 85, no. 5, November 1998 (1998-11), pages 839-848, XP001009572 page 846, left-hand column -page 847, right-hand column abstract ---	1-3
A	BANNIKOVA L A ET AL: "Starter for cows milk koumiss" INTERNATIONAL FOOD INFORMATION SERVICE (IFIS) FSTA,XX,XX, vol. 27, 1970, XP002136043 abstract ---	1,2
A	WO 99 09838 A (HANSENS LAB ;HOEIER ERIK (DK); LAULUND ESBEN (DK); ELSBORG KRISTIA) 4 March 1999 (1999-03-04) page 5 -page 15 -----	14-29

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

Information on patent family members

International Application No  
PCT/FR 01/02928

Patent document cited in search report		Publication date		Patent family member(s)	Publication date
US 4851347	A	25-07-1989	US	4919942 A	24-04-1990
US 4402986	A	06-09-1983	CA	1181285 A1	22-01-1985
EP 0575951	A	29-12-1993	DE	4220889 A1	24-02-1994
			CA	2099632 A1	26-12-1993
			EP	0575951 A2	29-12-1993
US 4020185	A	26-04-1977	US	3852158 A	03-12-1974
			CA	999779 A1	16-11-1976
WO 9909838	A	04-03-1999	AU	731222 B2	29-03-2001
			AU	8798398 A	16-03-1999
			BR	9811993 A	05-09-2000
			WO	9909838 A1	04-03-1999
			EP	1009243 A1	21-06-2000
			PL	338799 A1	20-11-2000

**RAPPORT DE — CHERCHE INTERNATIONALE**

Demande Internationale No  
PCT/FR 01/02928

**A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE**  
CIB 7 C12N1/38 A23C9/127 A23C19/032 C12N1/20

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

**B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE**

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)  
CIB 7 C12N A23C

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, BIOSIS, FSTA, INSPEC

**C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS**

Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	US 4 851 347 A (WILLRETT DOUGLAS L ET AL) 25 juillet 1989 (1989-07-25) abrégué —	1
A	US 4 402 986 A (SINKOFF BRIAN A ET AL) 6 septembre 1983 (1983-09-06) abrégué colonne 2, ligne 27 – ligne 35 —	1
A	EP 0 575 951 A (MUELLER KARL & CO KG) 29 décembre 1993 (1993-12-29) abrégué; revendications; exemple 1 page 2, ligne 30 – ligne 37 page 3, ligne 21 – ligne 28 —	1-12, 14, 15

Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

° Catégories spéciales de documents cités:

- \*A\* document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- \*E\* document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- \*L\* document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- \*O\* document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- \*P\* document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

- \*T\* document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention
- \*X\* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément
- \*Y\* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier
- \*&\* document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

12 décembre 2001

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

19/12/2001

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale  
Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL – 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Ceder, 0

**RAPPORT DE CHERCHE INTERNATIONALE**

Demande Internationale No  
PCT/FR 01/02928

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	LELIEVELD H L M: "CONTINUOUS FERMENTATION IN YOGHURT MANUFACTURE" PROCESS BIOCHEMISTRY, XX, XX, vol. 11, no. 5, 1 juin 1976 (1976-06-01), pages 39-40, XP002031924 page 39; figure 1 ---	14-17, 19,20, 22,23, 26,28,29
A	US 4 020 185 A (ANDERSEN DELMAR LLOYD ET AL) 26 avril 1977 (1977-04-26) abrégé; revendications ---	1,2,4, 8-10,12, 14,15
A	GOMES ET AL.: "Use of small ruminants' milk supplemented with available nitrogen as growth media for <i>Bifidobacterium lactis</i> and <i>Lactobacillus acidophilus</i> " JOURNAL OF APPLIED MICROBIOLOGY, vol. 85, no. 5, novembre 1998 (1998-11), pages 839-848, XP001009572 page 846, colonne de gauche -page 847, colonne de droite abrégé	1-3
A	BANNIKOVA L A ET AL: "Starter for cows milk koumiss" INTERNATIONAL FOOD INFORMATION SERVICE (IFIS) FSTA,XX,XX, vol. 27, 1970, XP002136043 abrégé ---	1,2
A	WO 99 09838 A (HANSENS LAB ;HOEIER ERIK (DK); LAULUND ESBEN (DK); ELSBORG KRISTIA) 4 mars 1999 (1999-03-04) page 5 -page 15 ----	14-29

**RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE**

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Demande Internationale N°  
PCT/FR 01/02928

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication		Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
US 4851347	A	25-07-1989	US	4919942 A	24-04-1990
US 4402986	A	06-09-1983	CA	1181285 A1	22-01-1985
EP 0575951	A	29-12-1993	DE CA EP	4220889 A1 2099632 A1 0575951 A2	24-02-1994 26-12-1993 29-12-1993
US 4020185	A	26-04-1977	US CA	3852158 A 999779 A1	03-12-1974 16-11-1976
WO 9909838	A	04-03-1999	AU AU BR WO EP PL	731222 B2 8798398 A 9811993 A 9909838 A1 1009243 A1 338799 A1	29-03-2001 16-03-1999 05-09-2000 04-03-1999 21-06-2000 20-11-2000